



Gradering: Åpen	<b>Storfe - laboratoriediagnostikk luftveislidelser</b>		MO02_015
Dok.Id: MO02_015 300_Storfe_luftveislidelser	Utarbeidet av :TM Utgave nr: 3.00	Godkjent: MH Dato: 15.11.2015	Side 1 av 5

## Laboratoriediagnostikk ved luftveislidelser

### Storfe

Forekomsten av luftveisinfeksjoner hos storfe ser ut til å øke ved overgang til større besetninger. Luftveisinfeksjoner forårsaker store økonomiske tap og har betydelige dyrevelferdsmessige konsekvenser. Etiologien ved pneumoni hos kalv og ungdyr er sammensatt. Flere infeksjose agens har en avgjørende rolle i samspill med vert-, miljø- og driftsforhold. Både ved besetningsutbrudd og ved vedvarende problemer med pneumoni (enzootisk pneumoni) i besetninger forårsaker luftveisvirus ofte en primærinfeksjon, noe som gir grunnlag for utvikling av sekundære bakterieinfeksjoner. I Danmark har man også funnet bakterier som primærinfeksjonj ved pneumoni i flere dyr i samme besetning.

#### Bovint respiratorisk syncytialvirus (BRSV)

BRSV regnes som en hovedårsak til smittsom hoste, både ved enzootisk pneumoni og ved utbrudd som smitter mellom besetninger. I besetninger hvor BRSV sirkulerer, vil alvorlig klinisk sykdom særlig ramme yngre dyr fordi eldre dyr kan være delvis immune fra tidligere infeksjoner. I besetninger hvor dyra har liten eller ingen immunitet, vil pneumoni kunne ramme dyr i alle aldre. Klinisk sykdom forårsaket av BRSV observeres først og fremst i vinterhalvåret. Reinfeksjon av besetninger skjer ofte, sannsynligvis også i sommerhalvåret og da ofte uten at alvorlige sykdomstegn blir registrert.

#### Bovint coronavirus (BCoV)

Prevalensen av antistoffer mot BCoV i Norge er høy. BCoV replikerer både i luftveis- og tarmepitel og kan gi klinisk luftveissjukdom, alene eller samtidig med diaréutbrudd. Sammenlignet med BRSV synes BCoV mer sjelden å være årsak til "luftveisepidemier". BCoV kan forårsake vinterdysenteri hos voksne dyr og blir mer sjelden påvist i forbindelse med kalvediaré.

#### Parainfluenzavirus 3 (PIV-3)

PIV-3 er alminnelig forekommende i de fleste storfebesetninger. Betydningen av PIV-3 som årsak til klinisk sykdom, er usikker. Det antas at betydningen av både BCoV og PIV-3 er størst i besetninger med samtidige infeksjoner med BRSV.

#### Aktuelle bakterier

*Pasteurella multocida* og *Trueperella (Arcanobacterium) pyogenes* isoleres ofte, *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* av og til, mens *Histophilus somni* påvises mer sjelden. Disse bakteriene, som normalt er følsomme for penicillin, kan alle være tilstede i øvre luftveier hos klinisk friske dyr eller i miljøet. Sekundærinfeksjoner med ett eller flere agens i lungene kan forverre sykdomssituasjonen og medføre en dårligere prognose.

#### Andre agens

Bovint herpesvirus type 1 (BHV-1), bovin virusdiarévirus (BVDV) og *Mycoplasma bovis* (ikke diagnostisk tilbud for *M. bovis* i Norge), som er viktige i mange land, regnes ikke å ha betydning i Norge. Forekomst og betydning av lungeorm hos storfe (*Dictyocaulus viviparus*) er lite kartlagt, men parasitten påvises av og til i innsendt materiale. Parasitten kan ramme alle dyr som spiser gras med infektive larver (L3). Første-års-beitere i områder med mye nedbør er spesielt utsatt for smitte med påfølgende klinisk sykdom, vesentlig om høsten og vinteren.



Gradering: Åpen	<b>Storfe - laboratoriediagnostikk luftveislidelser</b>			MO02_015
Dok.Id: MO02_015 300_Storfe_luftveislidelser	Utarbeidet av :TM Utgave nr:	3.00	Godkjent: MH Dato: 15.11.2015	Side 2 av 5

### Prøvemateriale og prøvetaking

Ved mistanke om A- eller B-sjukdom skal alltid Mattilsynet kontaktes umiddelbart og før eventuell prøvetaking.

Undersøkelse for luftveisvirus kan gjøres direkte ved påvisning av virusets nukleinsyre (PCR-teknikk) eller indirekte ved undersøkelse for antistoff i serum (parprøver). Formålet med undersøkelsen vil ofte være å stille en besetningsdiagnose. For å stille en mest mulig sikker besetningsdiagnose anbefaler vi å teste flere dyr i egnet alder, helst rundt 5 dyr.

#### Påvisning av virus

Til virologisk undersøkelse for BRSV og BCoV med PCR benyttes fortrinnsvis nesevabere (såkalte flokkede prøvesvaber «flocked swabs» som blant annet sendes ut fra Veterinærinstituttet) tatt tidlig i sjukdomsforløpet. Dette gjelder ved luftveissymptomer på både unge og eldre dyr med eller uten samtidig diaré. Bronkoalveolær skyllevæske, trakeal skyllevæske, eller ferskt organmateriale (f.eks. lunger) fra selvdøde eller avlivede dyr kan også benyttes. Ved prøvetaking av flere dyr fra en besetning, kan nesevabere fra inntil 3 dyr plasseres i samme rør med virus transportmedium. Svabere oppbevart i et slikt transportmedium kan undersøkes for både BRSV og BCoV ved PCR. Gratis prøvetakingsutstyr og ferdig frankerte og adresserte innsendingskonvolutter for «Luftveispakke viruspåvisning storfe» (både BRSV og BCoV eller kun BRSV/kun BCoV; 3 eller 6 dyr) kan rekvireres fra Veterinærinstituttet. For bestilling av utstyr og prislister, se: <http://www.vetinst.no/Proevetaking-og-diagnostikk/Prislister>. Gel- og kullsvabere kan ikke brukes til virusundersøkelse, og bruk av flokket svaber isteden for bomullssvaber vil øke muligheten for å påvise virus. Svaberprøver skal sendes avkjølt, men ikke fryses. Sjansen for å påvise virus er størst i prøver tatt i begynnelsen av en infeksjon.

#### Påvisning av antistoff

Til serologisk undersøkelse benyttes 5-10 ml fullblod (rød kork) og eventuelt parprøver (blodprøver tatt fra samme individ) med 2-4 ukers mellomrom. Hensikten med parprøver er å undersøke om et dyr har serokonvertert (gått fra antistoff negativ til antistoffpositiv) eller hatt en økning i mengde antistoff. Fullblodprøver bør beveges minst mulig etter prøveuttak og stå noen timer i romtemperatur før det settes i kjøleskap ved 4 °C. Ved oppbevaring utover ei uke må prøven sentrifugeres og serum fryses (for eksempel ved innsending av parprøver). For fremstilling av serum kreves ca. 1300 G i 10 min., tilsvarende ca. 2800 rpm. dersom sentrifugeradius er 15 cm. Man kan også sende inn prøvene fra hvert av de to prøvetakingene separat. Man må da opplyse på rekvisisjonsskjema at det vil bli innsendt parprøver fra de samme dyra fordi en eventuell stigning i mengde antistoff er lettere å fange opp hvis prøver og parprøver analyseres på samme ELISA-plate på laboratoriet.

#### Påvisning av bakterier

Til bakteriologisk undersøkelse må man benytte organmateriale, bronkoalveolære- eller trakeale skylleprøver. Ved feltobduksjon kan en sende inn en eller begge lungehalvdeler for undersøkelse, eller en kan svabre patologiske prosesser og sende inn svabere på transportmedium (kullmedium). Prøvetakingen skal gjøres på ferskt materiale. Det er lite aktuelt å analysere nesevabere for bakterier fordi potensielt patogene luftveisbakterier ofte forekommer i neseslimhinnen hos friske dyr og fordi visse patogene bakterier, for eksempel *Histophilus somni*, sjelden isoleres fra neseslimhinne. Sannsynligheten for å påvise bakterier er størst seint i sjukdomsforløpet.

#### Påvisning av lungeorm egg/larver

Avføringsprøve med tanke på lungeormegg/-larver kan sendes til Veterinærinstituttet i Sandnes eller Veterinærinstitutt Oslo. Undersøkelse av flere dyr, helst 5, gir mer informasjon



Gradering: Åpen	<b>Storfe - laboratoriediagnostikk luftveislidelser</b>			MO02_015
Dok.Id: MO02_015 300_Storfe_luftveislidelser	Utarbeidet av :TM Utgave nr:	3.00	Godkjent: MH Dato: 15.11.2015	Side 3 av 5

og anbefales generelt. Prøvemengde fra hvert dyr må være minst 5 gram (helst 10 gram). Det tilbys to «parasittpakker» som inkluderer lungeorm <http://www.vetinst.no/Proevetaking-og-diagnostikk/Prislister>.

### Obduksjon og laboratorieundersøkelse

Ved obduksjonen blir det foretatt en makroskopisk vurdering av luftveiene (nesehule, sinus, larynx, trachea og lunger). Det blir tatt prøver til histologisk undersøkelse fra områder med patologiske forandringer. Ved påvisning av forandringer som indikerer bakteriell infeksjon, blir det aktuelle området undersøkt bakteriologisk. Ved påvisning av forandringer som indikerer virusinfeksjon, blir det vurdert om materialet er egnet for PCR-undersøkelse. Det er aktuelt med virologiske (PCR) eller serologiske undersøkelser av andre dyr i slike besetninger. Ved mistanke om lungeorm tas det utstryk til direkte mikroskopering. Lungeorm påvises også i histologiske preparater.

### Anbefalte undersøkelser og vurdering av laboratoriefunn

PCR-undersøkelse av nesesvaber, bronkoalveolære- og trakeale skylleprøver eller lunger for luftveivirus egner seg for dyr i alle aldre. Et positivt PCR-resultat tyder på en aktiv virusutskillelse, mens et negativt resultat kan bety at sykdommen har en annen årsak eller at man har gjort prøvetakingsfeil.

Serologisk undersøkelse av parprøver for BRSV, PIV-3 og BCoV egner seg best for kalver eldre enn 3 mnd. Fra denne alder vil parprøver uttatt i tidlig sykdomsfase og 2-4 uker seinere gi en god indikasjon på om prøvetatte dyr nylig har vært eksponert for ett eller flere virus.

#### Påvisning av antistoff i serum

Påvisning av antistoff mot et agens i serumprøver betyr ikke at agenset nødvendigvis er involvert i sykdommen. Tilstedeværende antistoff i en prøve kan i tillegg til aktiv/nylig gjennomgått infeksjon skyldes en tidligere gjennomgått infeksjon, vaksinasjon mot BRSV og PIV-3 eller, hos kalver yngre enn 5 mnd., maternalt overførte antistoff. Maternale antistoff har en halveringstid på 20-30 dager, og hos unge kalver kan et normalt fall i antistoff-mengde mellom to prøver maskere en stigning i antistoffnivået fremkalt av aktiv infeksjon. Ved å øke tidsintervallet mellom prøve og parprøve (opp mot 4 uker) øker sannsynligheten for å identifisere en titerstigning også hos unge dyr. Behovet for et langt intervall mellom prøvene er større jo yngre dyret er.

#### Kalver eldre enn 3 måneder

Ved besetningsutbrudd hos dyr eldre enn 3 mnd. anbefales parprøver fra 5 dyr undersøkt serologisk for BRSV, PIV-3 og BCoV (luftveispakke, antistoff ELISA. <http://www.vetinst.no/Proevetaking-og-diagnostikk/Prislister>). Verdien av prøveresultatene øker med antall individer som blir undersøkt. Det er viktig at 1. blodprøve tas tidlig i infeksjonsforløpet. I en binge med sjuke dyr, prøvetar man også noen av de friske dyra som med stor sannsynlighet er smitta eller vil bli smitta hvis luftveivirus er årsak.

Som alternativ, eller i tillegg til serologiske undersøkelser, kan man sende inn nesesvaber, bronkoalveolære- eller trakeale skylleprøver eller organmateriale, som undersøkes for BRSV og eventuelt også BCoV med PCR. Det er viktig å ta prøve tidlig i sykdomsforløpet. Dyra som er sjukest, har som regel kommet for langt i sykdomsutviklingen til at de er egnet for påvisning av virus.

#### Kalver yngre enn 3 måneder

Ved utbrudd av luftveissjukdom på kalver yngre enn 3 mnd. anbefales generelt nesesvaber (evt. bronkoalveolære- eller trakeale skylleprøver eller organmateriale) for påvisning av BRSV og BCoV. Parprøver som undersøkes for antistoffer mot BRSV, PIV-3 og BCoV kan



Gradering: Åpen	<b>Storfe - laboratoriediagnostikk luftveislidelser</b>			MO02_015
Dok.Id: MO02_015 300_Storfe_luftveislidelser	Utarbeidet av :TM Utgave nr: 3.00	Godkjent: MH Dato: 15.11.2015	Side 4 av 5	

også for denne aldergruppa gi verdifull informasjon aleine eller i kombinasjon med PCR-undersøkelse.

I besetninger med tidligere eller gjentatte luftveisproblemer kan resultatene være vanskelig å tolke fordi kalvene kan ha høye nivåer av maternale antistoffer. Her er det viktig at intervallet mellom parprøvene er minst 3-4 uker. Ved utbrudd i besetninger som ikke har registrert alvorlig luftveissjukdom på mange år, er det mindre sannsynlig at kalver har mottatt maternale antistoffer, og parprøver vil oftest gi god informasjon om sirkulerende virus for dyr i alle aldersgrupper. Innsending av døde dyr eller organer kan gi verdifull informasjon.

#### Storfebesetninger med langvarige/tilbakevennende problemer med luftveisinfeksjoner

I "problembesetninger" har man erfaringsmessig flere runder med utbruddsliknende tilstander om vinteren i tillegg til at enkelte kalver kan hoste gjennom hele sesongen. I slike besetninger sirkulerer ofte både BRSV, BCoV og PIV-3. Sekundære bakterielle infeksjoner kan forverre det kliniske bildet og bakteriologisk dyrking bør foretas i problembesetninger. Hvis man bare ønsker å finne ut om BRSV og/eller PIV-3 og BCoV har vært tilstede i besetningen, trengs kun en enkel blodprøve fra 5 dyr. For at ikke maternale antistoffer skal vanskeliggjøre tolking av resultatene, bør kalver som prøvetas være over 5 mnd., men under ett år slik at man kan si noe om forekomsten av luftveivirus i besetningen det siste året.

I tillegg til å bekrefte at man har et pneumoniproblem bør man undersøke om bakenforliggende problemer som navlebetennelser, diaré, lave nivåer av IgG og underføring kan være en del av problemet. Obduksjon av avlivede eller sjøldøde dyr vil her kunne være et viktig bidrag til å oppklare sjukeproblemer. En slik kartlegging bør alltid gjøres hvis man vurderer å benytte vaksinasjon som ett av flere forebyggende tiltak.

Resultatene av laboratorieundersøkelser må alltid vurderes i forhold til anamnesen, dyrets alder, andre mikrobiologiske funn, patologiske forandringer, miljø, driftsforhold, føring, råmjølkstilgang osv. Tolkningen av positive antistofftiter for BCoV eller påvist antigen er problematisk siden dette virus også kan infisere tarm og forårsake diaré i flere aldersgrupper.

**Tabell 1. De mest aktuelle undersøkelsene ved obduksjon av storfe med luftveislidelser <sup>1)</sup>**

Histologi	Bakteriologi <sup>2)</sup>	Parasittologi (avføring)	Antigen påvisning <sup>2)</sup>
Lunge Annet etter vurdering	Generell bakteriologisk undersøkelse	<i>Dictyocaulus viviparus</i> <sup>3)</sup>	BRSV (PCR) BCoV (PCR)

<sup>1)</sup> Enhetsprisene ved obduksjon dekker undersøkelsene det er indikasjon for å gjøre unntatt PCR.

<sup>2)</sup> På indikasjon basert på obduksjonsfunn og histologiske funn.

<sup>3)</sup> Høst og vinter ved indikasjon basert på obduksjonsfunn og histologiske funn.

**Tabell 2. De mest aktuelle laboratorieundersøkelsene ved innsendte prøver av storfe med luftveislidelser.**

Bakteriologi (lunge/svaber/skylleprøve)	Serologi <sup>1)</sup>	Antigen påvisning (svaber/skylleprøve/lunge)
Generell bakteriologisk undersøkelse	BRSV <sup>2)</sup> BCoV PIV-3	BRSV (PCR) <sup>3)</sup> BCoV (PCR) <sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Luftveispakke – antistoff ELISA BRSV/BCoV/PIV3 for inntil 5 dyr.

<sup>2)</sup> Luftveispakke – antistoff ELISA BRSV for inntil 5 dyr.

<sup>3)</sup> Luftveispakker – PCR: BRSV, BCoV- eller BRSV + BCoV- pakke for inntil 3 eller 6 dyr.



Gradering: Åpen	<b>Storfe - laboratoriediagnostikk luftveislidelser</b>		MO02_015
Dok.Id: MO02_015 300_Storfe_luftveislidelser	Utarbeidet av :TM Utgave nr: 3.00	Godkjent: MH Dato: 15.11.2015	Side 5 av 5

## Aktuelle metoder som benyttes i diagnostikken.

NUMMER	NAMN	
ME01_001	Obduksjon/organundersøkelse	
ME01_002	Histologi (lunge, annet etter vurdering)	Inngår ved obduksjon
ME02_005	Generell bakteriologisk undersøkelse Aerob og anaerob dyrking	Inngår ved obduksjon
ME02_152	Bakterier, resistensbestemmelse – Agardiffusjon, lapper	Inngår ved dyrking
ME04_008	Parasittlarver (lungeorm) i avføring Baermann oppsett	Inngår ved obduksjon
ME03_042	Bovint virusdiarévirus Antigen-/antistoffELISA	B-sjukdom
ME06_005	Bovint herpesvirus-1 (IBR/IPV) Antistoff ELISA	B-sjukdom
ME06_009	Bovint respiratorisk synsytialvirus Antistoff ELISA, inklusive parprøver fra inntil 5 dyr	
ME06_222	Parainfluenzavirus 3 Antistoff ELISA, inklusive parprøver, prøver fra inntil 5 dyr	
ME07_206	Bovint coronavirus PCR for nesevaber, avføring og lunge, prøver fra inntil 3 eller 6 dyr	
ME07_207	Bovint respiratorisk synsytialvirus PCR for nesevaber, skylleveske og lunge, prøver fra inntil 3 eller 6 dyr	
ME07	Bovint respiratorisk synsytialvirus og bovin coronavirus PCR for nesevaber, skylleveske og lunge, prøver fra inntil 3 eller 6 dyr	
ME07_007	Bovint virusdiarévirus PCR for EDTA-blod eller fullblod	B-sjukdom